

ZUSAMMENHÄNGE ZWISCHEN DEHYDROEPIANDROSTERON
UND CYCLISCHEM ADENOSINMONOPHOSPHAT
IN MENSCHLICHEN ERYTHROCYTEN

Peter Zimmer

1973

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Abteilung für Experimentelle Endokrinologie
der Universitäts-Frauenklinik
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

ZUSAMMENHÄNGE ZWISCHEN DEHYDROEPIANDROSTERON
UND CYCLISCHEM ADENOSINMONOPHOSPHAT
IN MENSCHLICHEN ERYTHROCYTEN

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz,

den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von

Peter Zimmer
aus Altenglan

Mainz 1973

Fachbereichsdekan: Professor Dr. H. Langendorf

Referent: Professor Dr. G.W. Oertel

Korreferent: Professor Dr. V. Friedberg

Tag der mündlichen Prüfung: 12.12.1973



Gesamtherstellung:



DITTERS BÜRODIENST

6501 HEIDESHEIM/RHEIN · AM KAPELLCHEN 1

TELEFON 0 6132 / 57 11

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG	1
MATERIAL	8
METHODIK	9
VERWENDETE ABKÜRZUNGEN	14
ERGEBNISSE	15
DISKUSSION	20
ZUSAMMENFASSUNG	23
LITERATURVERZEICHNIS	24

EINLEITUNG

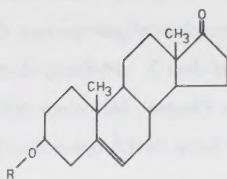
Es ist bekannt, daß unter physiologischen Bedingungen gewisse Beziehungen existieren zwischen der Aktivität der Glucose-6-phosphatdehydrogenase (G-6-PDH; EC 1.1.1.49) in den menschlichen Erythrocyten und dem 3 -Hydroxy-5-androsten-17-on (Dehydroepiandrosteron, DHEA) im Urin oder Plasma. Mit einer 60%igen Inhibition bei 10^{-5} M Konzentration zeigte sich das freie DHEA unter den freien C_{19} -Steroiden als der beste Inhibitor. OERTEL et al. bewiesen damit zugleich, daß das endogene sulfokonjugierte DHEA nicht identisch ist mit DHEA-Sulfat oder freiem DHEA. (LOPEZ und KREHL, 1967; SONKA und GREGOROVA, 1962; BRANDAU und LUH, 1968; OERTEL et al., 1971). Während sich das DHEA-Sulfat als vollkommen unwirksam im G-6-PDH-Hemmtest erwies (TSUTSUI et al., 1962; OERTEL und REBELEIN, 1969; BENES und OERTEL, 1971), wurde das endogene sulfokonjugierte DHEA als der beste Inhibitor der G-6-PDH befunden.

Nachgewiesen wurde auch ein verschiedenes Verhalten dieser drei Substanzen bei der Penetration durch die Membranen menschlicher Erythrocyten (BENES; SIMSONY; OERTEL) und durch die Membranen von intakten Mitochondrien (BENES; HERZ; OERTEL).

Lipophiles DHEA-Sulfokonjugat hatte - unabhängig davon, ob es sich dabei um synthetisches, biosynthetisches oder aus Plasma isoliertes, lipophiles DHEA-Sulfokonjugat handelt - die besten Penetrationseigenschaften bei Erythrocyten und auch bei Mitochondrien. Auf der anderen Seite erhielt man mit DHEA-Sulfat die niedrigsten Penetrationsraten. Das freie DHEA lag bezüglich seiner Penetrationseigenschaften zwischen diesen beiden Substanzen.

Dehydroepiandrosteron und seine Konjugate:

DHEA ist mengenmäßig das wichtigste Steroid im menschlichen Organismus. Bei einer täglichen Produktionsrate von 10 - 40 mg (20) erreicht die Konzentration dieses C_{19} -Steroides im Plasma gesunder Männer und Frauen Werte bis zu 250 bzw. 150 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ Plasma (2). DHEA liegt im Blut fast ausschließlich als Sulfokonjugat vor (Abb. 1). Nach jüngeren Untersuchungen, wie bereits zuvor angedeutet, besitzt sulfokonjugiertes DHEA lipophilen Charakter (3, 31). Im menschlichen Blut ist es offenbar an Protein der Albuminfraktion (Postalbumin) gebunden (32).



3β-Hydroxy-5-androsten-17-on

Freies DHEA:	R= -H
Sulfat:	R= -SO ₃ ⁻
Sulfatid:	R= -SO ₃ -CH ₂ - $\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{-O-CO-R}_1 \\ \\ \text{CH-O-CO-R}_2 \end{array}$
Glucuronosid:	R= -CH ₂ -(CHOH) ₄ -COO ⁻

Abb. 1: Dehydroepiandrosteron und seine Konjugate

Aus dem Darm wird DHEA-Sulfat wohl nicht als Anion, sondern erst nach Überführung in Sulfatid resorbiert (18). Nach OERTEL wird oral oder parenteral verabreichtes DHEA-Sulfat in vitro und in vivo rasch in DHEA-Sulfatid (Abb. 1) umgewandelt. Versuche, das im Organismus gelegentlich fehlende DHEA-Sulfatid durch externe Zufuhr von DHEA-Sulfat zu ergänzen, lassen sich auf Grund einer beinahe vollständigen Resorption aus dem Darm (12) und eines beachtlichen enterohepatischen sulfokonjugierten DHEA's rechtfertigen (18). Der Metabolismus der DHEA-Sulfokonjugate (Abb. 2) entspricht in qualitativer Hinsicht demjenigen des freien Steroids oder des DHEA-Glucuronids, d.h., es treten dieselben Stoffwechselprodukte auf (11, 17, 36).

Einmal die einer potentiellen Vorstufe der im Organismus benötigten Androgene und Östrogene, zum anderen möglicherweise die eines Regulators der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (28).

Das cyclische Adenosinmonophosphat (cyclisches AMP):

Die Rolle der Hormone als chemische Sendboten zwischen einzelnen Organen ist seit längerer Zeit bekannt (Abb. 3).

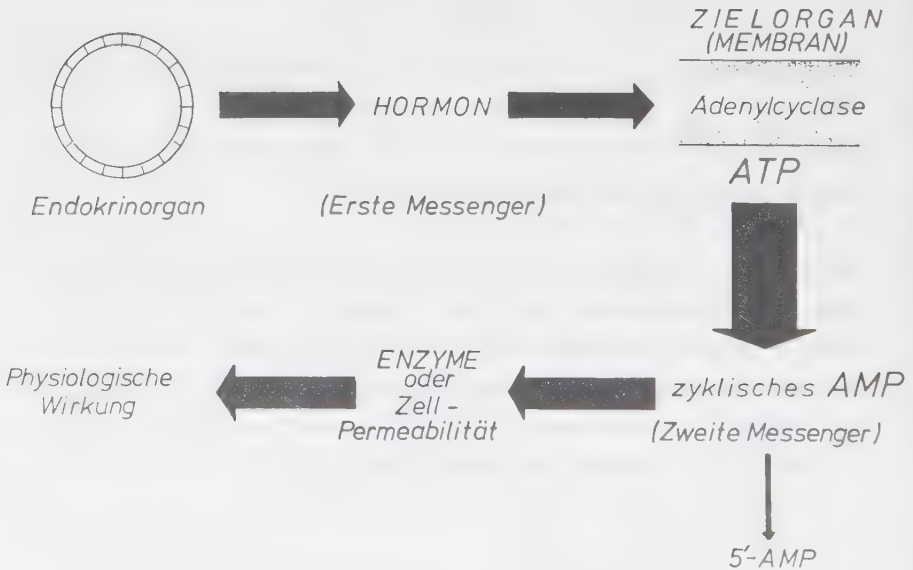


Abb. 3: Vermittlung einer Hormonwirkung durch cyclisches AMP

Was nicht nahezu so klar erscheint, ist der Weg, auf welchem ein Hormon seine spezifische Wirkung in einem Zielorgan induzieren kann. Es fällt im allgemeinen schwer, die oft sehr unterschiedlichen Wirkungen eines Hormons auf den Stoffwechsel gewisser Zellsysteme auf einen gemeinsamen Nenner zu bringen. Hinzu kommt, daß die Zellmembranen für zahlreiche Hormone schwer zu überwindende Hindernisse darstellen, so

daß ein Erreichen des intrazellulären Wirkungsortes stets mit Schwierigkeiten verbunden ist. Schon Moleküle von der Größenordnung der Glucose können die meisten Zellmembranen nicht mehr frei passieren, sondern nur mittels besonderer Hilfsmechanismen in die Zelle eindringen. Es ist daher schwer vorstellbar, daß die teilweise sehr großen Proteohormone durch Poren in der Zellmembran an ihren Wirkungsort innerhalb der Zellen gelangen. Es lag daher nahe, die Hormonwirkung im Zusammenhang mit der Zellmembran zu untersuchen. Diese Möglichkeit wurde durch die eleganten Arbeiten von SUTHERLAND und Mitarbeitern aufgezeigt. Aufgrund der zahlreichen Arbeiten wurde SUTHERLAND mit dem Nobelpreis der Medizin ausgezeichnet. Die Untersuchungen im Institut für Therapeutische Biochemie des Klinikums der Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt/M., zeigten weiterhin, daß das cyclische AMP auch bei der Onkogenese und Immunantwort eine regulatorische Rolle spielt.

Es bedeutet dies, daß cyclisches AMP auch für die zukünftige klinische Forschung ein interessantes Molekül darstellt.

Vor etwa 10 Jahren stellte man fest, daß cyclisches AMP in der Leber eine wichtige regulatorische Rolle spielt. Damals wurde entdeckt, daß die glycogenolytische Einwirkung des Epinephrins und Glucagons über cyclisches AMP abläuft. In den letzten Jahren konnte man weiter nachweisen, daß nicht nur die Wirkung der eben genannten Hormone, sondern die zahlreichen anderen Hormone, z.B. Schilddrüsenhormon und Steroide, ebenfalls von cyclischem AMP gesteuert wird. Aufgrund dieser Eigenschaften hat man dem Molekül die Bezeichnung "second messenger" gegeben.

Außer dieser hormonimitierenden Wirkung ist das cyclische AMP bei zahlreichen Stoffwechselvorgängen beteiligt. Die neuesten Untersuchungen auf dem Gebiet der Molekularbiologie weisen darauf hin, daß auch bei Enzyminduktionen cyclisches AMP aktiv beteiligt ist. Es wurde zum ersten Mal im oben genannten Institut für Therapeutische Biochemie in Frankfurt gezeigt (14, 16, 15). Sowohl onkologische als auch immunologische Vorgänge werden von cyclischem AMP entscheidend beeinflusst.

Die Bildung des cyclischen AMP wird durch ein an die Zellmembran gebundenes Enzym, die Adenylcyclase, katalysiert. Es entsteht cyclisches AMP aus ATP unter Abspaltung von Pyrophosphat (Abb. 4).

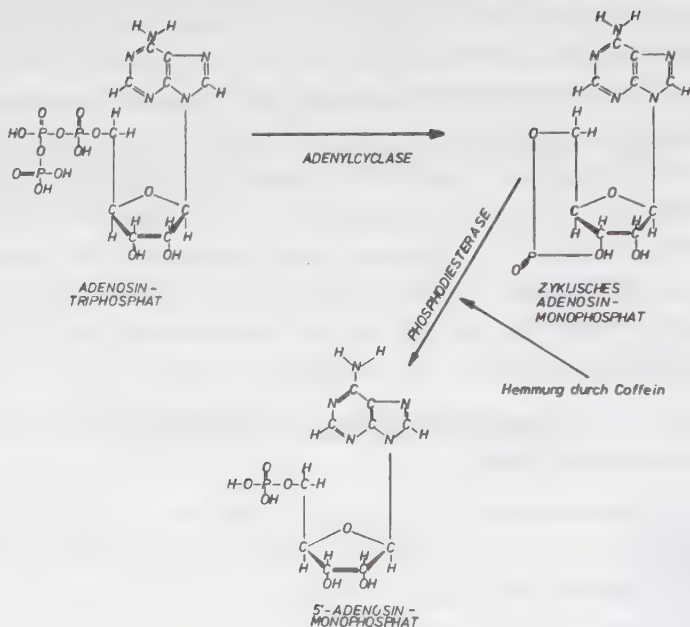


Abb. 4: Biosynthese und Abbau von cyclischem AMP

Das so gebildete cyclische AMP wird dann durch eine relativ spezifische Phosphodiesterase zu 5'-AMP gespalten. Ribonuclease, sowie saure und alkalische Phosphatase sind unwirksam. Die intrazelluläre Konzentration wird hauptsächlich von den oben genannten Enzymen reguliert. Die Substanzen, die die intrazelluläre Konzentration des cyclischen AMP steigern, entfalten ihre Wirkung entweder durch die Stimulierung der Adenylyl cyclase bzw. vermehrte Bildung des Enzyms, oder hemmend über die Steigerung der Phosphodiesteraseaktivität.

Aufgrund der aktiven Beteiligung des cyclischen AMP bei der Wirkung zahlreicher Hormone wurde von SUTHERLAND und Mitarbeitern eine Hypothese vorgeschlagen, wonach das cyclische AMP die Rolle eines Botschafters spielt, der die Aufgabe hat, die Befehle des Hormons weiterzuleiten.

Nach seiner Freisetzung aus der endokrinen Drüse wird das Hormon an seinen Wirkungsort transportiert, wo die erste Wechselwirkung mit der an die Membran gebundenen Adenylcyclase stattfindet, die, wie früher erwähnt, zur Bildung von cyclischem AMP notwendig ist. Dadurch wird die intrazelluläre Konzentration des cyclischen AMP's gesteigert.

Die Aufgabe des Hormons wird nach dieser Hypothese als Primärwirkung bezeichnet, so daß es daher als erster Messenger zu betrachten ist. Das cyclische AMP, dessen Bildung von einem Hormon katalysiert wurde, übernimmt dann die Aufgabe, die Wirkung des Hormons in den physiologischen, biologischen und biochemischen Prozessen weiter zu vermitteln, was ihm die Bezeichnung eines "second messenger's" eintrug. Diese Wirkung des cyclischen AMP's erfolgt über Enzymaktivierung, Permeabilitätsänderungen der Zellmembran, Freisetzung der biologischen Amine und vermehrte Synthese der Makromoleküle. Die Hormone, die die Bildung des cyclischen AMP's steigern, sind die Catecholamine, ACTH, Glucagon, LH, ICSH, α -MSH, Vasopressin und Prostaglandin. Hemmend wirken dagegen auf die Spiegel des cyclischen AMP's TSH, Insulin, Melatonin und α -Adrenergetica. Die Aktivierung des cyclischen AMP durch die entsprechenden Hormone bewirkt im Fettgewebe z.B. eine vermehrte Lipolyse, in der Nebennierenrinde eine vermehrte Steroidogenese, die überdies auch im Corpus luteum, Ovar und Hoden hervorgerufen wird. Die in den einzelnen Geweben entstehenden Hormone sind den vorhandenen Enzymsystemen entsprechend verschieden. In der Leber ist cyclisches AMP für die Gluconeogenese notwendig, während es im Pankreas eine vermehrte Insulinproduktion hervorruft.

PROBLEMSTELLUNG:

Bei der vorliegenden Arbeit sollten in diesem Zusammenhang folgende Fragen geklärt werden:

1. In welchem Umfang erfolgt die Penetration von DHEA und DHEA-Sulfat durch die Membran der Erythrocyten.
2. In welcher Form penetriert DHEA-Sulfat durch die Membran der Erythrocyten.
3. Bestehen Beziehungen zwischen der Penetration von DHEA oder DHEA-Sulfat und dem Gehalt der Erythrocyten an cyclischem AMP.

Herkunft der Materialien:

Das DHEA lieferte die Firma Merck AG, Darmstadt.

7α - ^3H -DHEA stammte von der Firma New England Nuclear Corp., Boston, USA.

Doppeltmarkiertes DHEA-Sulfat wurde aus $\text{H}_2^{35}\text{SO}_4$ (New England Nuclear Corp., Boston USA) und 7α - ^3H -DHEA (New England Nuclear) durch Kondensation mit Dicyclohexylcarbodiimid in Dimethylformamid hergestellt.

Das cyclische Adenosinmonophosphat wurde mit der Biochemica-Testpackung der Firma Boehringer Mannheim GmbH bestimmt.

METHODIK

1. INKUBATIONSVERFAHREN:

a) Blutgewinnung:

Von je zwei männlichen und zwei weiblichen Normalpersonen wurde Blut entnommen und mit 0,2 Vol. Citratlösung als Antikoagulans verdünnt.

Herstellung der Citratlösung:

1,32 g Natriumcitrat, 0,44 g Zitronensäure und 1,47 g Dextrose werden mit Aqua bidestillata auf 100 ml aufgefüllt.

b) Gewinnung der Erythrocyten:

Die entnommenen Blutproben wurden jeweils 15 Minuten bei 1500 g zentrifugiert und der Überstand dekantiert. Daran schloß sich eine dreimalige Waschung der Erythrocyten mit 80 ml 0,9%iger, physiologischer Kochsalzlösung an, wobei man jeweils 15 Minuten zentrifugierte und vom Sediment dekantierte. Der Rückstand wurde in 10 ml 0,9% NaCl/0,025% EDTA-Lösung suspendiert, so daß also 1 ml der Erythrocyten-suspension 1 ml Blut entsprach.

Zur Inkubation wurde 1 ml der hergestellten Erythrocyten-Suspension mit 1,98 ml der 0,9% NaCl/0,025% EDTA-Lösung verdünnt.

c) Vorbereitung der zugegebenen Steroide:

Die benötigte Konzentration an Steroid bzw. Steroidkonjugat wurde im Falle des DHEA's in Dioxan gelöst, im Falle des DHEA-Sulfates in Methanol. Ihre Konzentration wurde so gewählt, daß sich im Inkubat eine Endkonzentration von 10^{-5} M ergab.

d) Inkubation:

Das Inkubat bestand, wie oben angegeben, aus der hergestellten Erythrocyten-Suspension und im Falle des DHEA's aus 1,98 ml des 0,9% NaCl/0,025% EDTA-Puffer sowie 0,02 ml DHEA mit 8,64 g Dioxan. Im Falle des DHEA-Sulfates dampfte man 0,02 ml einer Lösung von 11,76 g DHEA-Sulfat in Methanol in Erlenmeyer-Kolben zur Trockne ein. Hierzu wurden

2 ml 0,9% NaCl/0,025-EDTA-Lösung hinzugefügt, bis unter langsamen Schütteln das DHEA-Sulfat vollständig gelöst war. Anschließend setzte man 1 ml der Erythrocyten-Suspension hinzu.

Die Inkubation im Schüttelwasserbad bei 37°C ($\pm 0,5^{\circ}\text{C}$) dauerte 30 Minuten.

Von jeder Versuchsperson wurden drei Proben jeweils mit DHEA, DHEA-Sulfat und mit 0,02 ml Dioxan (Leerwert) inkubiert.

e) Aufarbeitung der Inkubate:

Nach 30 Minuten wurden die Proben schnell auf 4°C abgekühlt und die intakten Erythrocyten durch Zentrifugieren für 15 Minuten bei 1500 g sedimentiert. Zwecks Entfernung der an der äußeren Erythrocytenmembran adsorbierten Radioaktivität wurden die Proben dreimal mit je 5 ml 0,9% NaCl/0,02% EDTA-Lösung gründlich gewaschen und durch Zentrifugieren sedimentiert.

f) Hämolyse:

Die Erythrocyten wurden sodann mit 3,0 ml Eiswasser über zwei Stunden bei 0°C hämolytisiert. Nach vollständiger Hämolyse entfernte man die Membran der Erythrocyten durch Zentrifugieren für 20 Minuten bei 4000 g und Dekantieren.

2. BESTIMMUNG DER STEROIDE:

a) Extraktion:

Von der genau abgemessenen Menge des Hämolysates entnahm man 1 ml zwecks Extraktion der Steroide ab. Der Rest wurde für die Bestimmung des cyclischen Adenosin-3':5'-monophosphates benutzt.

Unter stetem Schütteln setzte man zu den Proben 4 ml Aceton, schüttelte 60 Minuten bei 37°C und saugte vom ausgefällten Eiweiß ab. Das Filtrat wurde mit 8 ml Diisopropyläther und 2 ml Butanol-(2) (4:1 v/v) und dampfte das Filtrat schließlich im Rotationsverdampfer bei maximal 37°C zur Trockne ein.

Ein Zehntel (1/10) vom Trockenrückstand benutzte man zur Messung der gesamten Radioaktivität im Hämolysat.

b) Messung der Radioaktivität:

^3H - und ^{35}S -Radioaktivität wurde simultan im Packard (TRI-CARB Spektrometer 3310) gemessen, unter Verwendung des externen Standard zwecks Quenchkorrektur.

c) Trennung der Steroidkonjugate von freien Steroiden:

Die Steroidkonjugate wurden von den freien Steroiden mittels aufsteigender Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel-GF 254 (Merck, Darmstadt) im System Chloroform - Methanol - Ammoniak (15:5:0,2 v/v) getrennt.

Die freien Steroide wandern hierbei mit einem R_f -Wert von 0,95, die Steroid-Sulfate mit einem R_f -Wert von etwa 0,5 - 0,6. Die entsprechenden Zonen wurden abgekratzt, im Falle der freien Steroide mit Methylenchlorid-Methanol (9:1 v/v), im Falle der Steroid-Sulfate mit Methanol quantitativ eluiert, die Eluate eingedampft und weiterverarbeitet.

d) Spaltung der Steroidkonjugate (48):

Der Trockenrückstand der Steroidkonjugate wurde mit 30 ml Äther-Perchlorsäure (100:1 v/v) aufgenommen und die Lösung 24 Stunden bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde die Ätherphase mit Wasser gewaschen und zur Trockne gebracht. Die weitere Verarbeitung erfolgte wie oben für die freien Steroide angegeben.

e) Trennung von DHEA und seinen Metaboliten mittels Dünnschichtchromatographie:

α) Freie Steroide:

Der Trockenrückstand mit den freien Steroiden wurde in Chloroform gelöst und strichförmig auf eine 0,3 mm dicke Dünnschicht aus Kieselgel-G (Merck, Darmstadt) überführt. Die Entwicklung des Chromatogramms geschah in dem Lösungsmittelsystem Chloroform-Dioxan (94:6 v/v).

Die R_f -Werte der so gewonnenen Fraktionen betrugen für:

17-Ketosteroide	0,52
Androstendiol	0,24
Androstentriol	0,07
Androstendion	0,84

Die entsprechenden Zonen wurden mit Methylenchlorid-Methanol (9 : 1 v v) eluiert und ihre Radioaktivität nach vollkommener Trocknung in aliquoten Teilen, wie oben angegeben, gemessen.

β) Trennung der Steroidderivate (48, 46, 47):

Der Rückstand der 17-Ketosteroide, wie er bei der oben angeführten Dünnschichtchromatographie anfiel, wurde mit 0,1 ml 0,2% 2,4-Dinitrophenylhydrazin (DNPH) in Äthylacetat bei 37 °C zur völligen Trockne eingedampft. Danach inkubierte man die Proben mit 1,0 ml 0,03% Trichloressigsäure in absolutem Benzol 30 Min. bei 37 °C und dampfte zur Trockne ein. Der in wenig Chloroform gelöste Trockenrückstand wurde strichförmig auf eine 0,3 mm dicke Dünnschicht aus Kieselgel-G (Merck, Darmstadt) überführt, daneben eine sichtbare Menge entsprechenden Standards. Die Entwicklung des Chromatogramms geschah in dem Lösungsmittelsystem Chloroform-Dioxan (9 : 1 v v) eluiert (33) und die Eluate zur vollkommenen Trockne gebracht. Die Messung der Radioaktivität erfolgte in der üblichen Weise.

3. BESTIMMUNG DES CYCLISCHEN ADENOSIN-3:5'-MONOPHOSPHATES:

Zur Bestimmung von cyclischem A-3':5'-Monophosphat, die in Triplikat durchgeführt wurde, benutzte man den Radioisotopenverdünnungstest mit cyclischem AMP-bindenden Protein.

Der Testansatz wurde vorsichtig durchgemischt, 100 Minuten bei 0°C stehen gelassen und dann mit 1 ml eisgekühltem Kaliumphosphat-Puffer versetzt. Die Millipore-Filter auf dem Filtrationsapparat feuchtete man mit dem Kaliumphosphat-Puffer an, filtrierte den Ansatz über die Filter ab und wusch mit ca. 10 ml eisgekühltem Kaliumphosphat-Puffer nach. Die trockenen Filter gab man in Szintillationsgläser und löste sie unter leichtem Schütteln in 1 ml 2-(Methoxy)-äthanol.

Nach Versetzen mit 10 ml Szintillationslösung wurden die gut zugeschraubten Gläser mindestens 2 Minuten stark geschüttelt. Man temperierte die Gläser im Szintillationszähler für 2 Stunden im Dunkeln, wobei mehrmals leicht geschüttelt wurde. Die Messung jeder Probe erfolgte über 10 Minuten, ebenso die des Leerwertes.

Abkürzungen, die in dieser Arbeit benutzt wurden:

Androstendiol	5-Androsten-3 β , 17 β -diol
Androstentriol	5-Androsten-3 β , 16 α , 17 β -triol
Androstendion	4-Androsten-3, 17-dion
Androsteron	3 α -Hydroxy-5 α -androstan-17-on
Ätiocholanolon	3 α -Hydroxy-5 β -androstan-17-on
AMP	Adenosinmonophosphat
cAMP	Adenosin-3' :5'-Monophosphat
ATP	Adenosintriphosphat
DHEA	3 β -Hydroxy-5-androsten-17-on
EDTA	Äthylendiamintetraessigsäure Dinatriumsalz
G-6-PDH	Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase
PPC	Pentose-phosphat-Zyklus
16 α -OH-DHEA	3 β , 16 α -Dihydroxy-5-androsten-17-on
Testosteron	17 β -Hydroxy-4-androsten-3-on

ERGEBNISSE:

Die Resultate der Inkubation von Erythrocyten mit DHEA oder DHEA-Sulfat und nachfolgender Bestimmung des cyclischen AMP's wird in den Tabellen 1 - 4 zusammengestellt.

Bei der Bestimmung der in die Erythrocyten eingedrungenen ^3H -Aktivität wurden die in Tabellen 5 - 9 gezeigten Ergebnisse erhalten.

In Tabelle 9 findet man die Zusammensetzung der C_{19} -Steroide in den Erythrocyten nach Inkubation mit DHEA.

Tabelle 1: Konzentration des cyclischen Adenosin-3':5'-monophosphates in Erythrocyten der ersten weiblichen Kontrollperson/B.

a) Bebrütung der Erythrocyten ohne Steroide:

0,94	pMol/ 10^9	Ery
1,10	pMol/ 10^9	Ery
0,90	pMol/ 10^9	Ery

b) Bebrütung der Erythrocyten mit DHEA:

0,47	pMol/ 10^9	Ery
0,52	pMol/ 10^9	Ery
0,65	pMol/ 10^9	Ery

c) Bebrütung der Erythrocyten mit DHEA-Sulfat:

0,95	pMol/ 10^9	Ery
1,02	pMol/ 10^9	Ery
1,05	pMol/ 10^9	Ery

Tabelle 2: Konzentration des cyclischen Adenosin-3':5'-monophosphates in Erythrocyten der zweiten weiblichen Kontrollperson/S.

a) Bebrütung der Erythrocyten ohne Steroide:

0,77	pMol/10 ⁹	Ery
1,02	pMol/10 ⁹	Ery
0,95	pMol/10 ⁹	Ery

b) Bebrütung der Erythrocyten mit DHEA:

0,52	pMol/10 ⁹	Ery
0,75	pMol/10 ⁹	Ery
0,67	pMol/10 ⁹	Ery

c) Bebrütung der Erythrocyten mit DHEA-Sulfat:

1,02	pMol/10 ⁹	Ery
0,87	pMol/10 ⁹	Ery
0,92	pMol/10 ⁹	Ery

Tabelle 3: Konzentration des cyclischen Adenosin-3':5'-monophosphates in Erythrocyten der ersten männlichen Kontrollperson/H.

a) Bebrütung der Erythrocyten ohne Steroide:

0,77	pMol/10 ⁹	Ery
0,95	pMol/10 ⁹	Ery
0,85	pMol/10 ⁹	Ery

b) Bebrütung der Erythrocyten mit DHEA:

0,70	pMol/10 ⁹	Ery
0,62	pMol/10 ⁹	Ery
0,58	pMol/10 ⁹	Ery

c) Bebrütung der Erythrocyten mit DHEA-Sulfat:

0,75	pMol/10 ⁹	Ery
0,87	pMol/10 ⁹	Ery
0,80	pMol/10 ⁹	Ery

Tabelle 4: Konzentration des cyclischen Adenosin-3':5'-monophosphates in Erythrocyten der zweiten männlichen Kontrollperson/Z.

a) Bebrütung der Erythrocyten ohne Steroide:

1,00	pMol/10 ⁹	Ery
0,98	pMol/10 ⁹	Ery
0,95	pMol/10 ⁹	Ery

b) Bebrütung der Erythrocyten mit DHEA:

0,52	pMol/10 ⁹	Ery
0,62	pMol/10 ⁹	Ery
0,50	pMol/10 ⁹	Ery

c) Bebrütung der Erythrocyten mit DHEA-Sulfat:

0,85	pMol/10 ⁹	Ery
0,95	pMol/10 ⁹	Ery
1,00	pMol/10 ⁹	Ery

Tabelle 5: ³H-Aktivität im Hämolysat nach Bebrütung der intakten Erythrocyten mit

a) 7 α -³H-DHEA

b) 7 α -³H-DHEA-Sulfat

(Versuchsperson B. ♀)

Substrat	dpm	% der ³ H-Aktivität
a) DHEA	690 000	7,9
DHEA		7,0
DHEA		8,1
b) DHEA-Sulfat	740 000	0,81
DHEA-Sulfat		0,78
DHEA-Sulfat		0,79

Tabelle 6: ^3H -Aktivität im Hämolysat nach Bebrütung der intakten Erythrocyten mit
a) 7α - ^3H -DHEA
b) 7α - ^3H -DHEA-Sulfat
(Versuchsperson Z. ♂)

Substrat	dpm	% der ^3H -Aktivität
a) DHEA	690 000	8,1
DHEA		9,6
DHEA		8,3
b) DHEA-Sulfat	740 000	0,71
DHEA-Sulfat		0,84
DHEA-Sulfat		0,94

Tabelle 7: ^3H - und ^{35}S -Aktivität im Hämolysat nach Bebrütung der intakten Erythrocyten mit
a) 7α - ^3H -DHEA
b) 7α - ^3H -DHEA- ^{35}S -Sulfat
(Versuchsperson S. ♀)

Substrat	Original ^3H -Aktivität in %	Original ^{35}S -Aktivität in %	$^3\text{H}/^{35}\text{S}$
a) DHEA	8,8	-	-
DHEA	8,0	-	-
DHEA	8,0	-	-
b) DHEA-Sulfat	0,88	0,76	2,28
DHEA-Sulfat	0,65	0,64	2,13
DHEA-Sulfat	0,69	0,67	2,24

Die zugegebene Aktivität in dpm:

	^3H	^{35}S	$^3\text{H}/^{35}\text{S}$
DHEA-Sulfat	192 800	88 700	2,17
DHEA	740 000	-	-

Tabelle 8: ^3H - und ^{35}S -Aktivität im Hämolytat nach Bebrütung der intakten Erythrocyten mit

a) 7α - ^3H -DHEA

b) 7α - ^3H -DHEA- ^{35}S -Sulfat

(Versuchsperson H. ♂)

Substrat	Original ^3H - Aktivität in %	Original ^{35}S - Aktivität in %	$^3\text{H}/^{35}\text{S}$
a) DHEA	8,4	-	-
DHEA	8,2	-	-
DHEA	7,8	-	-
b) DHEA-Sulfat	0,8	0,8	2,17
DHEA-Sulfat	0,63	0,61	2,2
DHEA-Sulfat	0,77	0,72	2,3

Die zugegebene Aktivität in dpm:

	^3H	^{35}S	$^3\text{H}/^{35}\text{S}$
DHEA-Sulfat	192 800	88 700	2,17
DHEA	740 000	-	-

Tabelle 9: Metabolismus von 7α - ^3H -DHEA in intakten Erythrocyten nach Bebrütung mit einer 10^{-5}M Steroidkonzentration.

Steroid	Konzentration: nMol in 4×10^9 Erythrocyten	
DHEA	1,58	1,74
Adiol	0,21	0,18
Atriol	0,33	0,36
16-OH-DHEA	0,27	0,33
Androsteron	0,12	0,27
Ätiocholanolon + Testosteron	0,012	0,021

DISKUSSION

In den letzten Jahren beschäftigten sich mehr und mehr Untersuchungen mit dem Wirkungsmechanismus von Hormonen (Übersicht: Frowein, J., Dtsch.Med. Wchschr. 97, 1918-1921 (1972)). Nach den bisherigen Erfahrungen unterscheiden sich Polypeptidhormone und Steroidhormone in ihrer Wirkungsweise. Bei ersteren Hormonen erfolgt die Informationsübertragung vom Hormon auf die Zelle in mehreren Schritten, von denen der erste aus einer Reaktion des Polypeptidhormons mit einem makromolekularen Rezeptorkomplex an der Zellmembran besteht. Dieser Rezeptorkomplex fungiert gleichzeitig als Carrier und ermöglicht die Penetration des Hormons in die Zelle. Da er wahrscheinlich auf der Innenseite der Membran mit dem Enzym Adenyl-Cyclase assoziiert ist, führt die Wechselwirkung von Hormon und Rezeptor zu einer Aktivierung des katalytischen Zentrums letzteren Enzyms. Die Adenyl-Cyclase stellt nun größere Konzentrationen an cyclischem AMP für die Aktivierung bzw. Inaktivierung von Enzymen bzw. die Inangangsetzung typischer Stoffwechselvorgänge zur Verfügung. Das cyclische AMP wurde daher als "second messenger" bezeichnet.

Was die Wirkungsweise von Steroidhormonen betrifft, so reagieren diese nach dem Eindringen in die Zelle aufgrund ihrer meist lipophilen Eigenschaften mit einem spezifischen Rezeptor des Cytoplasmas. Die Veränderung des Rezeptorproteins durch das gebundene Steroidhormon läßt nunmehr die Penetration in den Zellkern zu, wo unter dem Einfluß des Hormon-Protein-Komplexes spezifische Reaktionen ablaufen. Einmal greift besagter Komplex in die genetische Regulation auf der Stufe der nuklearen Transkription ein, die u.a. zu einer Neusynthese von Enzymprotein führt. Auf der anderen Seite aber erhöht der Hormon-Rezeptor-Komplex die Effektivität der Proteinsynthese an Ribosomen auf der Stufe der Translation.

Es häufen sich jedoch inzwischen die Hinweise, daß auch Steroidhormone die Spiegel des cyclischen AMP's in der Zelle nicht unbeeinflußt lassen und auf diese Weise ebenfalls das Stoffwechselgeschehen verändern. So berichteten SZEGO und DAVIS (1967) die bemerkenswerte Zunahme von cyclischem AMP im Uterus der Ratte nach Gabe von Östrogenen, während ADACHI und KANO (1970) eine Hemmung der Adenyl-Cyclase in Haarfollikeln durch Dihydrotestosteron beobachteten. In den

vorliegenden Experimenten ließ sich eine beachtliche Abnahme des cyclischen AMP's in menschlichen Erythrocyten durch Inkubation mit freiem DHEA nachweisen, die zwischen 27 und 46 % lag. Wurden die intakten Erythrocyten mit äquivalenten Konzentrationen an DHEA-Sulfat bebrütet, so blieb der Gehalt der Erythrocyten an cyclischem AMP praktisch unverändert, was auf die minimale Penetration des Steroid-Konjugats in die Zelle zurückzuführen ist. Welcher Schritt im Reaktionsmechanismus durch freies DHEA beeinflusst wird, kann ohne weiteres nicht entschieden werden. Handelt es sich um eine Hemmung der Adenyl-Cyclase oder aber um eine Aktivierung der spezifischen Phospho-diesterase, welche das cyclische AMP abbaut. Aufgrund der Tatsache, daß man von einer mehr oder weniger einheitlichen Konzentration an cyclischem AMP innerhalb der untersuchten Erythrocyten ausging, die lediglich in Gegenwart von freiem DHEA absank, erscheint eine Aktivierung der Phosphodiesterase durchaus möglich. Entsprechende Versuche über ein "Turn-over" des cyclischen AMP's in einer solchen Präparation könnten hier die gewünschten Aufschlüsse bringen.

Die Ergebnisse, welche in den Tabellen 1 - 9 zusammengefaßt wurden, haben die gestellten Fragen teilweise beantwortet.

Die Permeabilität der Erythrocytenmembran für die freien Steroide und Steroid-Konjugate geht aus den Tabellen 5 - 8 hervor.

Hinsichtlich der Penetration durch Steroide bzw. Steroid-Sulfat konnten keine Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Personen gefunden werden. Bei freiem DHEA lag der Prozentsatz der Penetrationsrate zwischen 7,0 % und 9,6 %. Dies entspricht den Ergebnissen früherer Arbeiten (P. BENES, R. SIMSONY und G.W. OERTEL, 1971), in welchen das Hämolysat 11,9 % des Substrates enthielt.

Im Gegensatz zu der fast 10%igen Penetrationsrate freien DHEA's fand man bei DHEA-Sulfat in allen Fällen Penetrationsraten von weniger als 1 %. Signifikante Unterschiede wurden bei den 4 Versuchspersonen nicht gefunden. Die Werte streuten zwischen 0,63 % und 0,94 % und glichen somit früherer angegebenen Befunden von P. BENES u.a. (1971).

Die angegebenen Penetrationsraten des freien DHEA's wurden nach Dünnschicht-chromatographie im System Chloroform-Methanol-Ammoniak gemessen (siehe Methode). Bei dieser Chromatographie ließ sich in den Zonen der Steroid-Konjugate keine Radio-

aktivität nachweisen, so daß eine wesentliche Umwandlung des freien Steroids in Sulfatid (über Sulfat) auszuschließen ist. Da DHEA-Sulfat wesentlich leichter durch die biologischen Membranen dringt, scheint die Penetration von den lipophilen Eigenschaften der Verbindungen abzuhängen. Biologisch aktive Steroide oder Steroid-Konjugate entfalten dann innerhalb der Zelle ihre Wirkung. Zu diesem Zusammenhang sei auf die Arbeit von G.W. OERTEL und REBELEIN (1969) hingewiesen, in welcher die Hemmung der erythrocytären Glucose-6-Phosphatdehydrogenase durch DHEA und DHEA-Sulfat bzw. DHEA-Sulfatid gemessen wurde. Hierbei konnte gezeigt werden, daß das DHEA-Sulfat fast keine Hemmeigenschaften aufweist, während das DHEA-Sulfatid den besten Hemmstoff darstellt. Freies DHEA führte bei einer Konzentration von $10^{-5}M$ zu einer 62%igen Hemmung des Enzyms.

In welcher Form DHEA-Sulfat durch die Erythrocyten-Membran penetriert, konnte nicht vollständig geklärt werden. Die vorliegenden Befunde lassen erkennen, daß bei Einsatz doppeltmarkierten DHEA-Sulfat's das Verhältnis von 3H zu ^{35}S unverändert blieb (Tabellen 7 b und 8 b) 2,13 und 2,30 gegenüber 2,13 des Ausgangsmaterials, das in einer Konzentration von $10^{-5}M$ vorlag. Dieses Ergebnis spricht dafür, daß unter den gegebenen Bedingungen bei den Versuchen mit intakten Erythrocyten die Steroidsulfokinase und die Steroidsulfatase keine wesentliche Rolle spielen. Ob es sich bei dem penetrierten DHEA-Sulfat eventuell um lipophiles DHEA-Sulfokonjugat, d.h. Sulfatid, handelt, wie schon im Falle der Penetration durch intakte Mitochondrien dargelegt (P.BENES, HERZ, G.W.OERTEL, 1971), bleibt offen. Das lipophile DHEA-Sulfokonjugat müßte dann in der Erythrocytenmembran synthetisiert werden.

Was den Stoffwechsel des jeweiligen Substrats betrifft, so beschreibt Tabelle 9 den Metabolismus des freien DHEA's an und in der Erythrocytenmembran, bzw. im Innern der Zelle. Nach diesen Befunden ist die Aktivität der 17β -Hydroxysteroid-oxidoreduktase wie auch der 16α -Hydroxylase besonders hoch.

Die 3β -Hydroxysteroid-dehydrogenase und die 5α - bzw. 5β -Dehydrogenase konnten durch die Isolierung von Androsteron und Ätiocholanolon nachgewiesen werden, doch fand man nur geringe Aktivitäten. Die Lokalisierung der verschiedenen Steroidumwandelnden Enzymsysteme in Membran oder Cytoplasma der Erythrocyten steht noch aus.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde die Permeabilität gewaschener Erythrocyten für freies DHEA und DHEA-Sulfat untersucht. Während DHEA-Sulfat kaum durch die Membran der Erythrocyten penetrierte, drangen annähernd 8 % des freien DHEA's in die Zellen. Bei Verwendung von Erythrocyten verschiedener Versuchspersonen ergaben sich keine wesentlichen Unterschiede in der Penetrationsrate. Die gleichzeitige Bestimmung des cyclischen Adenosin-monophosphats in den Erythrocyten erbrachte übereinstimmende Konzentrationen in den ohne bzw. mit DHEA-Sulfat bebrüteten Zellen. Dagegen führte die Inkubation der Erythrocyten mit freiem DHEA zu einer beachtlichen Abnahme des cyclischen Adenosin-monophosphats. Hier konnte zudem ein Stoffwechsel des Steroids nachgewiesen werden.

LITERATURVERZEICHNIS

1. ADACHI, K. und
M. KANO Adenylcyclase in human hair follicles.
Its inhibition by dihydrotestosterone.
Biochim.Biophys. Res. Commun. 4, 884-890 (1970)
2. BAULIEU, E.E. Three sulfats esters of 17-Ketosteroids in the plasma
of normal subjects and after administration of ACTH.
J.clin.Endocrin. Metab. (Springfield) 20, 900-903
(1960)
3. BAULIEU, E.E. Studies of conjugated 17-Ketosteroids in a case
of adrenal tumor.
J.clin.Endocrin. Metab. (Springfield) 22, 501-510
(1962)
4. BENES, P.,
G. HERZ und
G.W. OERTEL Penetration of intact mitochondria by dehydroepi-
androsterone and its conjugates or derivatives.
Experientia 28, 349 (1972)
5. BENES, P. und
G.W. OERTEL Effects of dehydroepiandrosterone, its conjugates
or derivatives upon the activity of human placental
glucose-6-phosphate dehydrogenase.
J.Steroid Biochim. 2, 289-292 (1971)
6. BENES, P.,
R. SIMSONY und
G.W. OERTEL Inhibition of glucose-6-phosphate dehydrogenase in
intact human erythrocytes by dehydroepiandrosterone
and its conjugates.
Steroidologia 2, 52-56 (1971)
7. BOLTE, E.
S. MANCUSO
C. ERIKSON
N. WIKQUIST und
E. DICZFALUZY Studies on the aromatization of neutral steroids
in pregnant women.
I. Aromatization of C₁₉-steroids by placentas
perfused in situ.
Acta endocr. (K'hn), 45, 535-559 (1964)
8. BRANDAU, H. und
W. LUH Der Einfluß von Steroidhormonen auf die Glucose-
oxydation.
Geburtsh. Frauenheilk. 28, 1074-1075 (1968)
9. BROWN, B.L.
J.D.M. ALBANO
R.P. EKINS und
A.M. SGHERZI A Simple and sensitive Saturation Arsay Method for
the Measurement of Adenosine-3':5'-Cyclic Mono-
phosphate.
Biochem. J. 121, 561-562 (1971)
10. CHANDRA, P. Zyklisches Adenosinmonophosphat in der Klinik und
Biochemie der zellulären Prozesse, der Immunant-
wort und Kanzerogenese.
Med.Welt 1, 9-15 (1972)

11. DORFMANN, R.I. und F. UNGAR Metabolism of steroid hormones.
Academic Press, New York 1965

12. FRIES, N.
P. KNAPSTEIN
F. WENDLBERGER und
G.W. OERTEL Entero-hepatischer Kreislauf von C_{19} -Steroiden.
V. Resorption und Rekonjugation von 7α - 3H -DHEA-
 ^{35}S -Sulfat im Dünndarm des Menschen in vivo.
Acta endocr. (K'lvn) 56, 705-712 (1967)

13. FROHWEIN, J. Wirkungsmechanismen von Hormonen aus molekular-
biologischer Sicht.
Dt.med.Wochenschr. 97, 1918-1921 (1972)

14. GERICKE, D. und
P. CHANDRA Inhibition of Tumor by Nucleoside Cyclic $3':5'$ -
Monophosphates.
Hoppe-Seyler's Zschr. Physiol.Chem. 350,
1469-1471 (1969)

15. GERICKE, D.
P. CHANDRA
J. HAENZEL und
A. WACKER Studies on the Effects of Nucleoside Cyclic $3':5'$ -
Monophosphates on Antibody Synthesis by Spleen
Cells.
Hoppe-Seyler's Zschr. Physiol.Chem. 351,
305-308 (1970)

16. GERICKE, D.
P. CHANDRA und
A. WACKER Some Effects of Adenosine $3':5'$ -Monophosphate
on Double Stranded RNA, poly I. poly C, on
FRIEND Leukemia in Mice.
Hoppe-Seyler's Zschr. Physiol.Chem. 351,
411-412 (1970)

17. KNAPSTEIN, P.
W. RINDT
F. WENDLBERGER und
G.W. OERTEL Plasmahalbwertszeit, Exkretion und direkter Meta-
bolismus von 7α - 3H -Androstenolon- ^{14}C -glucuronid
beim Menschen.
Hoppe-Seyler's Zschr.Physiol.Chem. 348, 93-99
(1967)

18. KNAPSTEIN, P.
F. WENDLBERGER und
G.W. OERTEL Enterohepatic circulation of 7α - 3H -DHEA- ^{35}S -sulfa-
te, 7α - 3H -DHEA in the human.
Experientia (Basel) 23, 480 (1967)

19. LOPEZ, S. und
W. KREHL A possible interrelation between glucose-6-phosphate
dehydrogenase and dehydroepiandrosterone in obesity.
Lancet ii: 485-487 (1967)

20. MAC DONALD, P.C.
A. CHAPDELAIN
O. GONZALES
E. GURPIDE
R. VANDE WIELE und
S. LIEBERMAN Studies on the secretion and interconversion of the
androgens. III. Results obtained after the injection
of several radioactive C_{19} -steroids, singly or as
mixtures.
J. clin.Endocrin. Metab. (Springfield) 25,
1557-1568 (1965)

21. MAC KERNS, K.W. und E. KALEITH Inhibition of glucose-6-phosphate dehydrogenase by hormones.
Biochim. biophys. Res. Commun. 2, 344-348 (1960)
22. MARKS, P.A. und J. BANKS Inhibition of mammalian glucose-6-phosphate dehydrogenase by steroids.
Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 46, 442-452 (1960)
23. MARKS, P.A. A. SZEINBERG und J. BANKS Erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase of normal and mutant human subjects.
J. biol. Chem. 236, 10-17 (1961)
24. MENZEL, P. M. GOBERT und G.W. OERTEL Effects of DHEA and its conjugates upon the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase in human placenta.
Hormone Metab. Res. 2, 225-227 (1970)
25. MENZEL, E. MENZEL, P. und G.W. OERTEL Hemmung der Glucose-6- Phosphatdehydrogenase in menschlichem Hirngewebe. VI. Einwirkung von Androstenolon und seinen Konjugaten auf die Aktivität der Glucose-6-Phosphatdehydrogenase.
Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chem. 351, 759-760 (1970)
26. MENZEL, P. und G.W. OERTEL Inhibition of testicular glucose-6-phosphate dehydrogenase by dehydroepiandrosterone and its conjugates.
Clin. Chim. Acta (Amst.) 29, 195-196 (1970)
27. MORATO, T. A.E. LEMUS und C. GUAL Efficiency of dehydroepiandrosterone sulphyte as an estrogen precursor (1).
Steroids, Suppl. 1, 59-74 (1965)
28. OERTEL, G.W. Dehydroepiandrosteron in biochemischer und klinischer Sicht.
Arzneimittel-Forsch. (Aulendorf) 21, 543-545 (1971)
29. OERTEL, G.W. Über Steroid-Konjugate im Plasma. II. Synthese von Sulfatidyl-Dehydroepiandrosteron.
Naturwissenschaften 48, 621 (1961)
30. OERTEL, G.W. Über Steroid-Konjugate im Plasma. XVII. Isolierung und Charakterisierung lipophiler Steroid-Konjugate aus Nebennierenrindengewebe, Plasma und Liquor.
Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chem. 343, 276-281 (1966)
31. OERTEL, G.W. Über Steroid-Konjugate im Plasma. XII. Plasmaspiegel verschiedener Steroid-Konjugate in Nebennierenvenen-, Lebervenen- und Femoralvenen-Blut.
Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chem. 336, 236-247 (1964)

32. OERTEL, G.W. und K. GROOT
Über Steroid-Konjugate im Plasma. XIII. Isolierung, Eigenschaften und Zusammensetzung eines biosynthetischen, lipophilen DHEA-Konjugates.
Hoppe-Seyler's Zschr. physiol.Chem. 341, 1-9 (1965)
33. OERTEL, G.W. und K. GROOT
Estimation of pregnandiol and pregnantriol in urine.
Clin.chem.Acta (Amst.) 11, 512-518 (1965)
34. OERTEL, G.W.
K. GROOT und P. BRÜHL
Über Steroid-Konjugate im Plasma. XIV. Zur Bindung von sulfokonjugierten Steroiden an Plasma-proteine.
Hoppe-Seyler's Zschr. physiol.Chem. 341, 10-21 (1965)
35. OERTEL, G.W.
K. GROOT und D. WENZEL
On lipophile steroid conjugates. II. In vivo biogenesis of estrogens from biosynthetic dehydroepiandrosterone sulphatide.
Acta endocr. (K'hvn) 49, 533-540 (1964)
36. OERTEL, G.W.
P. KNAPSTEIN und L. TREIBER
Über Steroid-Konjugate im Plasma. XIX. Direkter und indirekter Metabolismus von i.v. verabreichten ^3H und ^{35}S markierten Androstendionsulfates.
Hoppe-Seyler's Zschr. physiol.Chem. 345, 221-235 (1966)
37. OERTEL, G.W.
P. MENZEL und D. BAUKE
Effects of dehydroepiandrosterone and its conjugates upon the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase, III. Inhibition of glucose-6-phosphate dehydrogenase in human ovarian tissue.
Steroidologia 1, 2-7 (1970)
38. OERTEL, G.W.
P. MENZEL und D. BAUKE
Effects of dehydroepiandrosterone and its conjugates upon the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase, II.
Clin. chim. Acta (Amst.) 27, 197-201 (1970)
39. OERTEL, G.W.
P. MENZEL
G. HOFFMANN
H. HOLZMANN
B. MORSCHES und R. GEBHARDT
Steroide und Haut. V. Dehydroepiandrosteron im Plasma und Glucose-6-Phosphatdehydrogenase in Erythrocyten von Psoriatikern vor und nach Gabe von Dehydroepiandrosteronsulfat.
Z. klin.Chem. 9, 28-30 (1971)
40. OERTEL, G.W. und REBELEIN
Effects of dehydroepiandrosterone and its conjugates upon the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase in human erythrocytes.
Biochem. biophys. Acta 184, 459-460 (1969)

41. SZEGO, C.M. und J.S. DAVIS "A-3^β:5^α-MP in rat uterus; acute elevation by estrogen." Proc. Nat. Acad. Sci. 58, 1711-1718 (1968)
42. SZEGO, C.M. und J.S. DAVIS "Inhibition of estrogen-induced elevation of cyclic-3':5' adenosine monophosphate in rat uterus. I. By beta-adrenergic receptorblocking drugs." Mol. Pharmacol. 5, 470-480 (1969)
43. SIITERI, P.K. und P.C. MAC DONALD Estrogen formation in human pregnancy. J.clin. Endocr. Metab. (Springfield) 26, 751-761 (1966)
44. SONKA, J. und I. GREGOROVA Dehydroepiandrosteron - ein neuer Zutritt zur Pathogenese der Obesität. Endokrinologie, Lpz. 43, 206-214 (1962)
45. SONKA, J. I. GREGOROVA M. JIRANEK F. KÖLBEL und Z. MATYS Defekt des DHEA - ein neues Syndrom? Endokrinologie 47, 152-161 (1965)
46. TREIBER, L. und G.W. OERTEL Zur Bestimmung von Ketosteroiden mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin. I. Beschreibung der Methode. Zschr.klin.Chem.u.klin.Biochem. 5, 83-86 (1967)
47. TREIBER, L. und G.W. OERTEL Bestimmung von Ketosteroiden mittels der 2,4-Dinitrophenyl-Reaktion. In: 13. Symposium der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie, Würzburg 2. - 4. März 1967, S. 287-290 Berlin, Heidelberg, New York 1968
48. TREIBER, L. W. RINDT und G.W. OERTEL Zur Bestimmung von Ketosteroiden mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin. II. Anwendung der Methode bei Plasmaanalysen. Zschr.klin.Chem.u.klin.Biochem. 5, 102-106 (1967)
49. TSUTSUI, E.A. P.A. MARKS und P. REICH Effects of dehydroepiandrosterone on glucose-6-phosphate dehydrogenase activity and reduced triphosphopyridine nucleotide formation in adrenal tissue. J.biol.Chem. 237, 309-314 (1962)
50. WARREN, I.C. und A.P. FRENCH Distribution of steroid sulfatase in human tissue. J.clin.Endocr. Metab. 25, 278-282 (1965)

MEIN DANK GILT

Herrn Prof. Dr. Oertel, der mir das Thema der vorliegenden Arbeit überließ und mich in wissenschaftlichen Fragen sowie bei der Zusammenstellung dieser Arbeit beriet.

Herrn Dipl.-Chem. Benes für die Vermittlung theoretischer Grundlagen sowie für die Hilfe bei der praktischen Durchführung der Arbeit.

Herrn Dr. Belovsky für die freundliche Überlassung des für die Versuche benötigten doppeltmarkierten Dehydroepiandrosteron-Sulfates.

Frau Dorothea Strobil für ihre praktische Hilfe.

LEBENS LAUF

Am 30.05.1941 wurde ich, Peter Zimmer, als Sohn des praktischen Arztes Ernst Zimmer und seiner Ehefrau Gertrud, geb. Diepold, in Altenglan geboren.

Von 1947 bis 1951 besuchte ich die Volksschule in Altenglan. In der Zeit 1951 bis 1958 war ich Schüler des Nordpfalz-Gymnasiums in Kirchheimbolanden. Im Frühjahr 1962 legte ich in Koblenz die Reifeprüfung für Schulfremde ab.

Nach Ableistung einer zweijährigen Militärdienstzeit bei der Bundeswehr begann ich mein Medizinstudium im Sommersemester 1964 an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz, wo ich 1965 das Vorphysikum und 1969 das Physikum bestand.

Am 28. November 1972 schloß ich, ebenfalls an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz, mein Studium mit dem Medizinischen Staatsexamen erfolgreich ab.

Nach Abschluß des praktischen Teiles meiner Doktorarbeit trat ich am 1.4.1973 die Stelle eines Medizinalassistenten in der Chirurgischen Abteilung des Evangelischen Krankenhauses Kusel an.

Ich bin verheiratet und habe einen Sohn. Meine Ehefrau Sigrun, geb. Keller, ist examinierte Kinderkrankenschwester und arbeitet zur Zeit in der Allgemeinpraxis meines Vaters als Laborhilfe.

